

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Rumah Sakit sebagai institusi penyedia pelayanan kesehatan berupaya untuk mencegah resiko terjadinya infeksi bagi pasien dan petugas rumah sakit. Salah satu indikator keberhasilan dalam pelayanan rumah sakit adalah rendahnya angka infeksi nosokomial di rumah sakit (Anonim, 2001). Infeksi nosokomial merupakan infeksi yang didapat selama perawatan atau pemeriksaan di rumah sakit tanpa adanya tanda-tanda infeksi sebelumnya (Endarini, 2006). Faktor yang mempengaruhi terjadinya infeksi nosokomial adalah faktor endogen dan faktor eksogen. Faktor endogen adalah faktor yang ada di dalam penderita itu sendiri, misalnya karena faktor umur dan jenis kelamin. Sedangkan faktor eksogen adalah faktor yang berasal dari luar penderita, misalnya lama penderita dirawat di rumah sakit dan peralatan teknis medis yang digunakan (Syahrul, 1997).

Angka kejadian infeksi nosokomial di Asia Tenggara mencapai 10%. Mengambil tindakan dalam pencegahan infeksi mempunyai dampak positif pada biaya operasional, keselamatan pasien, kepuasan serta reputasi terhadap pelayanan kesehatan di rumah sakit. Beban karena infeksi nosokomial dari segi finansial sangat besar. Hal ini dirasakan oleh pemerintah, pembayar pajak, maupun bagi pasien. Waktu rawat di rumah sakit akan semakin panjang, oleh karena itu pasien dengan infeksi nosokomial akan memerlukan lebih banyak antibiotik, lebih banyak waktu perawatan baik di rumah sakit maupun di rumah. Selain itu, pasien

mengalami banyak ketidaknyamanan dan merasa tertekan dengan keadaannya (Gould dan Brooker, 2003). Untuk mencapai keberhasilan dalam pengatasan infeksi nosokomial, maka perlu dilakukan pengendalian infeksi di rumah sakit. Salah satu upaya pengendalian infeksi di rumah sakit dapat berupa pencegahan infeksi nosokomial dengan metode sterilisasi (Endarini, 2006).

Sterilisasi merupakan bagian integral dari pelayanan kesehatan dan pengendalian infeksi di rumah sakit (Darmadi, 2008). *Central Sterile Supply Department* (CSSD) merupakan salah satu unit pelayanan penunjang medik di rumah sakit yang menghasilkan produk steril (dapat berupa linen, instrumen medik pakai ulang, sarung tangan, dan bahan habis pakai). Upaya menghasilkan produk yang steril bertujuan untuk membantu meningkatkan kualitas pelayanan pasien dan mencegah dampak merugikan bagi pasien (Anonim, 2006).

Sebelum proses sterilisasi, instrumen pakai ulang akan melewati berbagai tahap di antaranya berupa pengumpulan, pencucian, pengeringan, pemilihan, pengemasan, sterilisasi, dan distribusi. Semua kegiatan untuk pelayanan CSSD itu membutuhkan biaya. Biaya-biaya itu antara lain biaya untuk pembelian bahan habis pakai, investasi peralatan seperti autoklaf, alat disinfeksi, pencuci, biaya listrik, biaya pengemas, biaya sumber daya manusia, serta biaya indikator. Setelah proses sterilisasi selesai, instrumen pakai ulang sebelum didistribusikan disimpan terlebih dahulu pada ruang penyimpanan dengan ketentuan yang telah ditetapkan. Penyimpanan dilakukan pada ruang dengan kelembaban antara 35-75%, suhu antara 18-22°C serta bertekanan positif sehingga udara mengalir keluar dari almari penyimpanan (Anonim, 2001).

Selama ini proses sterilisasi dapat dikatakan berhasil jika dilihat dari monitoring indikator yang digunakan dan uji mikrobiologinya (Anonim, 2001). Setelah proses sterilisasi selesai, sebelum didistribusikan instrumen pakai ulang disimpan terlebih dahulu pada tempat penyimpanan sesuai dengan ketentuan. Pada proses penyimpanan inilah dimungkinkan terjadi kontaminasi. Kontaminasi bisa disebabkan karena penyimpanan yang tidak benar, atau terjadi cemaran dari udara luar (Anonim, 2009).

Setelah proses sterilisasi selesai, sebelum didistribusikan instrumen pakai ulang disimpan dalam ruang penyimpanan yang dilengkapi dengan sinar UV dan persyaratan standar sesuai dengan ketentuan. Selama ini secara empiris instrumen pakai ulang yang telah enam hari disimpan dan tidak digunakan maka akan disterilisasi ulang (*recall*). Berdasarkan uraian prosedur penyimpanan yang ada di RSUD Dr. Moewardi Surakarta, dimungkinkan instrumen pakai ulang yang telah disimpan selama enam hari masih dalam keadaan steril dan belum ditemukan pertumbuhan mikroorganisme.

Mengingat untuk sekali proses sterilisasi diperlukan banyak tenaga, waktu, dan biaya maka, peneliti tertarik melakukan penelitian ini untuk membuktikan ada tidaknya pertumbuhan mikroorganisme pada hari ke enam dan mengetahui hari mulai ditemukan pertumbuhan mikroorganisme pada instrumen pakai ulang. Jika sampai batas waktu yang ditentukan belum ditemukan pertumbuhan mikroorganisme maka dapat disimpulkan bahwa pada hari ke enam belum perlu dilakukan sterilisasi ulang (*recall*). Rumah sakit dapat melakukan penghematan dengan tetap memberikan jaminan sterilitas dan keamanan bagi pasien.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Pada hari ke berapa mulai ditemukan pertumbuhan mikroorganisme pada instrumen pakai ulang paska sterilisasi di sub instalasi *Central Sterile Supply Department* (CSSD) RSUD Dr. Moewardi Surakarta?
2. Berapakah jumlah dan apa jenis mikroorganisme yang tumbuh pada instrumen pakai ulang paska sterilisasi di sub instalasi *Central Sterile Supply Department* (CSSD) RSUD Dr. Moewardi Surakarta?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah diatas maka tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pada hari ke berapa mulai ditemukan pertumbuhan mikroorganisme pada instrumen pakai ulang paska sterilisasi di sub instalasi *Central Sterile Supply Department* (CSSD) RSUD Dr. Moewardi Surakarta.
2. Menentukan jumlah dan jenis mikroorganisme yang tumbuh pada instrumen pakai ulang yang telah terkontaminasi paska sterilisasi di sub instalasi *Central Sterile Supply Department* (CSSD) RSUD Dr. Moewardi Surakarta.

D. Tinjauan Pustaka

1. *Central Sterile Supply Department* (CSSD)

Central Sterile Supply Department (CSSD) adalah pusat sterilisasi di Rumah Sakit. *Central Sterile Supply Department* (CSSD) mempunyai fungsi utama untuk

menyiapkan alat-alat bersih dan steril untuk keperluan perawatan pasien di rumah sakit (Anonim, 2001).

a. Pengertian

Central Sterile Supply Department (CSSD) adalah suatu bagian di rumah sakit yang menyelenggarakan proses pencucian, disinfeksi, pengeringan, pengemasan, dan sterilisasi terhadap semua bahan yang digunakan dalam keadaan steril (Rachman, 2006).

b. Tugas dan fungsi

Tugas dan fungsi dari CSSD antara lain:

- 1) Menyiapkan peralatan dan bahan steril untuk tindakan medis, penunjang medis dan asuhan keperawatan.
- 2) Tempat dilakukan proses dekontaminasi, disinfeksi, sterilisasi alat, dan bahan medis habis pakai.
- 3) Mendistribusikan alat dan bahan habis pakai yang telah steril.
- 4) Melakukan pemilihan peralatan dan bahan yang aman dan efektif serta bermutu.
- 5) Mempertahankan stok inventori yang memadai untuk keperluan pasien.
- 6) Mendokumentasikan semua kegiatan harian yang berupa aktivitas pembersihan, disinfeksi maupun sterilisasi sebagai bagian pengendalian mutu.
- 7) Melakukan penelitian terhadap hasil sterilisasi dalam rangka pencegahan infeksi bersama dengan penelitian pengendalian infeksi nosokomial.
- 8) Memberikan penyuluhan terhadap unit lain di rumah sakit tentang disinfeksi, pengemasan dan sterilisasi.

- 9) Menyelenggarakan pendidikan, pelatihan, dan pengembangan staf instalasi pusat sterilisasi baik yang bersifat intern maupun ekstern.
- 10) Mengevaluasi hasil sterilisasi.
- 11) Kalibrasi peralatan (Anonim, 2001).

c. Tata ruang

Pada prinsipnya desain ruang pusat sterilisasi terdiri dari ruang bersih dan ruang kotor yang dibuat sedemikian rupa untuk menghindari terjadinya dekontaminasi silang dari ruang kotor ke ruang bersih. Selain itu pembagian ruangan disesuaikan dengan alur kerja. Ruang pusat sterilisasi dibagi menjadi lima ruangan yaitu :

1) Ruang dekontaminasi

Pada ruang dekontaminasi terjadi proses penerimaan barang kotor, dekontaminasi, dan pembersihan. Ruang dekontaminasi harus direncanakan, dipelihara, dan dikontrol untuk mendukung efisiensi proses dekontaminasi serta melindungi pekerja dari benda-benda yang dapat menyebabkan infeksi, racun, dan hal-hal berbahaya lainnya (Anonim, 2009).

Ruang dekontaminasi harus terjaga dengan baik ventilasi, kebersihan, suhu, udara serta tersebarnya partikel-partikel yang dapat membawa mikroorganisme dari satu tempat ke tempat lainnya. Partikel-partikel ini dapat meningkatkan jumlah bakteri pada benda-benda yang terkontaminasi, alat-alat kesehatan yang telah didekontaminasi, alat-alat yang siap disterilkan, bahkan yang sudah steril. Udara dihisap ke luar atau ke dalam sistem sirkulasi udara yang mempunyai filter, diganti sepuluh kali dalam satu jam. Tekanan pada ventilasi udara harus negatif

agar tidak mengkontaminasi udara pada ruangan lainnya. Selain itu pada ruang dekontaminasi tidak dianjurkan memakai kipas angin (Anonim, 2009).

Suhu dan kelembaban berpengaruh pada jumlah mikroorganisme pada benda terkontaminasi, lingkungan, dan kenyamanan pekerja di ruang dekontaminasi. Suhu dan kelembaban yang direkomendasikan antara 18°C-22°C, dan kelembaban antara 35%-75%. Kebersihan ruang dekontaminasi sangat penting karena debu, serangga, dan vermin adalah pembawa mikroorganisme (Anonim, 2001).

2) Ruang pengemasan alat

Ruang pengemasan alat merupakan suatu ruang tempat dilakukannya proses pengemasan alat, bongkar pasang, dan penyimpanan barang bersih. Pada ruang ini dianjurkan ada tempat penyimpanan barang tertutup (Anonim, 2009).

3) Ruang pemrosesan linen

Di ruang pemrosesan ini dilakukan pemeriksaan linen, pelipatan dan pengemasan untuk persiapan sterilisasi. Pada daerah ini sebaiknya ada tempat untuk penyimpanan barang tertutup. Selain linen, pada ruang ini juga dilakukan pula persiapan untuk bahan seperti kain kasa, kapas, *cotton swabs*, dan sebagainya (Anonim, 2009).

4) Ruang sterilisasi

Ruang sterilisasi merupakan tempat dilakukannya proses sterilisasi alat dan bahan. Untuk sterilisasi etilen oksida, sebaiknya dibuatkan ruang khusus yang terpisah dan dilengkapi dengan alat sirkulasi udara (Anonim, 2009).

5) Ruang penyimpanan barang steril

Ruang penyimpanan barang steril berada dekat dengan ruang sterilisasi. Di ruang ini penerangan harus memadai, suhu antara 18°C-22°C dan kelembaban 35%-75%. Ventilasi pada ruangan ini menggunakan sistem tekanan positif dengan efisiensi filtrasi partikular antara 90-95% (untuk partikular berukuran 0,5 mikron). Dinding dan lantai ruangan terbuat dari bahan halus, kuat sehingga mudah dibersihkan. Barang-barang yang telah steril disimpan pada jarak 19-24 cm dari dinding serta diupayakan untuk menghindari terjadinya penumpukan debu pada kemasan, dan alat steril tidak disimpan dekat wastafel atau saluran pipa lainnya. Lokasi ruang penyimpanan steril harus jauh dari lalu lintas utama dan terisolasi (Anonim, 2009). Letak masing-masing ruang dapat dilihat dalam Gambar 1.

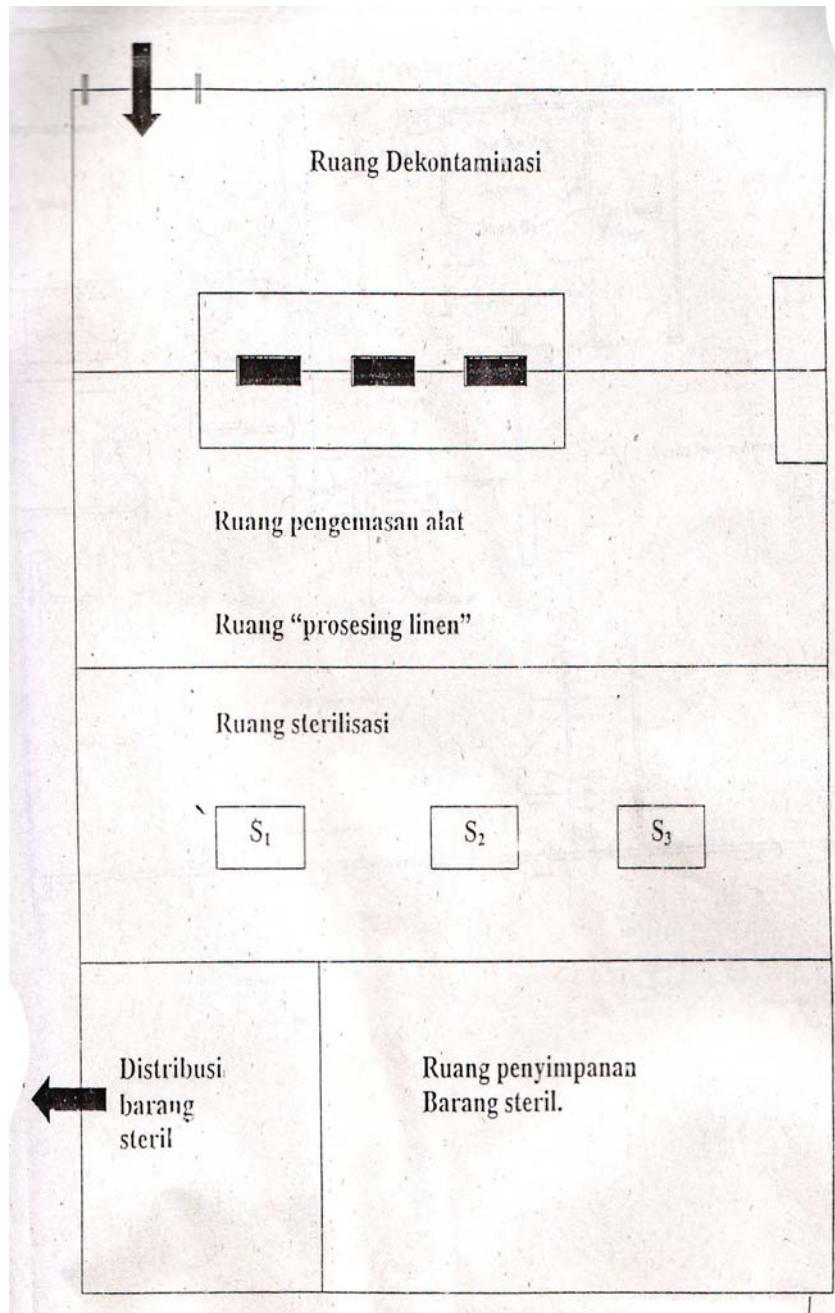
2. Instrumen

a. Pengertian

Instrumen adalah penyambung ketrampilan tangan tenaga ahli kesehatan atau tenaga bedah (Wind dan Rich, 1989). Sedangkan menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia instrumen adalah alat yang dipakai untuk mengerjakan sesuatu seperti yang dipakai oleh pekerja teknik, alat-alat kedokteran, alat optik, dan kimia (Anonim, 1995).

b. Penggolongan

Instrumen dikelompokkan menjadi empat kelompok utama yaitu, kelompok tajam (gunting), kelompok penjepit (klem), kelompok pemegang (pinset), dan kelompok penarik (Wind dan Rich, 1989).



Gambar 1. Denah Ruang Pusat Sterilisasi di Sub Instalasi *Central Sterile Supply Department* (CSSD) RSUD Dr. Moewardi Surakarta. Panah atas menunjukkan arah pintu masuk barang kotor (barang terkontaminasi), panah bawah menunjukkan pintu keluar barang bersih (barang yang telah steril).

3. Sterilisasi

Sterilisasi adalah suatu proses untuk menghasilkan suatu keadaan yang steril. Suatu kegiatan yang lazim dilakukan di rumah sakit dengan tujuan utama untuk menyediakan barang atau produk yang steril (Anonim, 2009).

a. Pengertian

Sterilisasi merupakan setiap proses (kimia maupun fisika) yang membunuh semua bentuk kehidupan terutama mikroorganisme (Anonim, 1994). Sterilisasi adalah suatu proses penghancuran atau penghilangan semua bentuk kehidupan mikroorganisme dan spora (Lawrence and May, 2003). Sterilisasi adalah proses penghilangan seluruh mikroorganisme dari alat kesehatan termasuk endospora bakteri (Nursalam, dan Kurniawati, 2007).

b. Metode sterilisasi

Prosedur sterilisasi cukup beraneka ragam tergantung pada faktor seperti macam bahan yang dibuat dan suasana peristiwa pemakaiannya. Metode utama yang biasa digunakan dalam proses sterilisasi dapat berupa sterilisasi fisika dan sterilisasi kimia (Suendra *et al.*, 1991). Metode sterilisasi yang dilakukan di rumah sakit terhadap instrumen medis dan linen dapat berupa sterilisasi dengan uap air, panas kering, gas formaldehid, gas etilen oksida, dan sterilisasi dengan plasma.

1) Sterilisasi dengan panas basah (autoklaf)

Sterilisasi dengan autoklaf adalah sterilisasi dengan menggunakan uap air disertai tekanan. Autoklaf memiliki suatu ruangan yang mampu menahan tekanan di atas 1 atm. Alat-alat atau bahan yang akan disterilkan, dimasukkan dalam ruangan. Setelah udara dalam ruangan ini digantikan oleh uap air, maka ruangan

ini ditutup rapat sehingga tekanannya akan meningkat, yang juga akan diikuti oleh kenaikan suhunya (Dwidjoseputro, 2005). Ada tiga waktu yang dapat digunakan dalam proses sterilisasi dengan panas basah. Sterilisasi dengan panas basah pada suhu 134-137°C dengan waktu minimum 3 menit dan tekanan 2,25 bar. Sterilisasi pada suhu 126-129°C selama 10 menit dan tekanan 1,50 bar. Sterilisasi pada suhu 121-124°C selama 15 menit dan tekanan 1,15 bar (Lawrence dan May, 2003).

Di dalam autoklaf yang mensterilkan adalah panas basah, bukan tekanannya. Oleh karena itu, setelah air dalam tangki mendidih dan mulai dibentuk uap air, maka uap air dialirkan ke ruang pensteril guna mendesak keluar semua udara di dalamnya. Apabila masih ada udara yang tersisa, maka udara tersebut akan menambah tekanan di dalam ruang pensteril yang akan mengganggu naiknya suhu dalam ruang tersebut (Anonim, 2001).

2) Sterilisasi dengan panas kering

Proses sterilisasi dengan panas kering terjadi melalui mekanisme konduksi panas, dimana panas yang terbentuk akan diabsorpsi oleh permukaan luar dari alat yang disterilkan lalu merambat ke bagian dalam permukaan sampai akhirnya suhu untuk sterilisasi tercapai. Sterilisasi panas kering digunakan untuk alat-alat dan bahan dimana *steam* tidak dapat berpenetrasi secara mudah dan digunakan untuk peralatan yang terbuat dari kaca (Anonim, 2009).

Siklus kerja dari mesin sterilisasi panas kering melalui empat tahapan, yaitu tahap pemanasan, periode *plateau* (sterilisasi), tahap *equilubrum*, dan tahap pendinginan *chamber*. Pada tahap pemanasan udara panas dihasilkan melalui mekanisme listrik dan sirkulasi pada *chamber*. Kemudian berlanjut pada tahap

plateau (sterilisasi) yang dimulai ketika sensor mendeteksi tercapainya suhu proses sterilisasi pada *chamber*. Pada saat seluruh *chamber* memiliki suhu yang sama maka akan berakhir fase *equilubrum* dan dimulai fase “*holding time*” atau sterilisasi. Tahap akhir adalah tahap pendinginan *chamber* (Anonim, 2009).

3) Sterilisasi dengan gas

a) Sterilisasi dengan etilen oksida

Metode sterilisasi dengan etilen oksida merupakan metode sterilisasi dengan suhu rendah. Gas etilen oksida merupakan zat yang dapat membunuh mikroorganisme dengan cara bereaksi dengan DNA dari mikroorganisme melalui mekanisme alkilasi. Etilen oksida merupakan gas yang sangat eksplosif dan larut di dalam air. Untuk menjamin sterilitas bahan-bahan diperlukan empat elemen esensial dalam sterilisasi dengan etilen oksida. Empat elemen itu adalah konsentrasi dari gas etilen oksida tidak kurang dari 400 mg/liter. Suhu yang digunakan tidak kurang dari 36°C pada siklus dingin dan tidak lebih dari 60°C pada siklus hangat. Kelembaban relatif yang diperlukan antara 40%-100% dan waktu yang merupakan korelasi langsung dengan suhu dan konsentrasi gas. Makin tinggi suhu dan konsentrasi gas makin cepat waktu yang diperlukan untuk proses sterilisasi. Namun etilen oksida meninggalkan residu yang iritatif untuk jaringan. Prosedurnya lambat, makan waktu dan alatnya mahal (Anonim, 2001).

Keuntungan penggunaan etilen oksida adalah mudah menembus plastik dan mensterilkan isi bungkus-bungkus. Alat-alat seperti alat optik, kateter, komponen-komponen *heart lung machine*, *arterial heart valves*, bantal, kasur dan sepatu dapat disterilkan dengan cara ini (Anonim, 2009).

b) Sterilisasi dengan uap formaldehid

Selain dalam bentuk cairan, formaldehid juga sangat bermanfaat dalam bentuk gas. Larutan formaldehid 37% dalam air apabila dipanaskan akan melepaskan uap formaldehid yang merupakan disinfektan yang sangat efektif bagi alat-alat dan berbagai bahan yang tercemar dengan spora atau *Mycobacterium tuberculosis*. Gas formaldehid dapat membunuh mikroorganisme melalui mekanisme alkilasi. Formaldehid biasa digunakan untuk mendisinfeksi ruangan, lemari, maupun instrumen-instrumen (Anonim, 1994).

Siklus kerja mesin sterilisasi gas formaldehid ada beberapa tahap. Tahapan itu berupa tahap pemanasan, *loading* atau memulai, pre-vakum, pemberian uap awal, dan *pulsing*. Pada tahap pre vakum dilakukan di bawah 50 mbar, pada proses ini akan menghilangkan udara dari *chamber* dan isi *chamber*. Sedangkan pada tahap *pulsing* ada empat tahapan yaitu pemberian *steam* atau uap secara kontinyu sampai suhu 73°C, pompa vakum dijalankan di bawah 50 mbar, pemaparan formaldehid sehingga diperoleh konsentrasi 15 mg/m³, serta fase kesetimbangan gas (Anonim, 2009).

4) Sterilisasi dengan plasma

Plasma secara umum didefinisikan sebagai gas yang terdiri dari elektron, ion-ion, maupun partikel-partikel netral. Plasma buatan dapat terjadi pada suhu tinggi maupun suhu rendah. Gas plasma suhu rendah terjadi apabila dalam keadaan *deep vacuum*. Gas tertentu distimulasi dengan frekuensi radio atau energi gelombang mikro sehingga terbentuk plasma. Plasma dari beberapa gas seperti argon, nitrogen, dan oksigen menunjukkan aktivitas sporosidal (Anonim, 2001).

Dalam pembentukan plasma yang berasal dari hidrogen peroksida, akan mengalami dua fase yaitu fase hidrogen peroksida dan fase plasma. Pembentukan plasma dimulai setelah prevakum *chamber*. Uap hidrogen peroksida yang dihasilkan dari larutan 58% hidrogen peroksida masuk ke dalam *chamber* melalui mekanisme difusi. Kemudian alat dan bahan yang akan disterilkan dipaparkan pada uap hidrogen peroksida selama 50 menit pada konsentrasi 6 mg/liter (Anonim, 2001).

4. Penilaian sterilitas

Tujuan pelayanan sterilisasi adalah menyediakan produk atau bahan dan alat medik yang steril, namun bukan berarti sekedar menghasilkan barang-barang yang steril. Barang-barang yang telah disteril harus ada jaminan bahwa barang-barang tersebut benar-benar steril. Untuk itu diperlukan mekanisme yang ketat. Pemeriksaan uji sterilitas instrumen pakai ulang dapat dilakukan dengan pengamatan pada kombinasi indikator mekanik, kimia, dan biologi sebagai parameter (Denyer dan Hodgers, 1998). Selain itu dapat pula dilakukan kultur bakteri dari instrumen pakai ulang yang telah disterilkan (Tietjen *et al*, 2004).

a. Indikator

Indikator yang digunakan selama proses sterilisasi yang merupakan parameter keberhasilan proses sterilisasi dapat berupa indikator mekanik, indikator kimia, dan indikator biologi. Indikator mekanik merupakan bagian dari instrumen mesin sterilisasi berupa tabel yang menunjukkan waktu, suhu maupun tekanan yang menerangkan bahwa alat sterilisasi bekerja dengan baik (Anonim, 2001).

Pengamatan pada indikator kimia dapat dilihat dengan terjadinya perubahan warna. Indikator ini berupa indikator eksternal berbentuk plester yang digunakan di luar kemasan. Indikator kimia mampu memberikan informasi tercapainya kondisi steril pada tiap kemasan serta memberikan informasi bahwa bagian luar kemasan benda yang disterilkan telah melewati proses sterilisasi (Anonim, 2001).

Pengamatan berikutnya dapat dilihat dari indikator biologi. Indikator biologi adalah sediaan yang berisi populasi mikroorganisme spesifik dalam bentuk spora yang resisten terhadap beberapa parameter. Parameter ini terkontrol dan terukur dalam suatu proses sterilisasi tertentu. Prinsip kerja indikator biologi adalah dengan mensterilkan spora hidup mikroorganisme yang non patogenik dan sangat resisten dalam jumlah tertentu. Apabila selama proses sterilisasi spora-spora tersebut terbunuh, maka dapat diasumsikan bahwa mikroorganisme lainnya juga terbunuh dan benda yang telah disterilkan bisa disebut steril (Anonim, 2009).

b. Kultur mikroorganisme

Metode lain yang dapat digunakan untuk uji sterilitas adalah dengan kultur bakteri pada media *Plate Count Agar* (PCA). Instrumen pakai ulang yang telah disetrilkan diusap secara acak dengan kapas lidi steril. Kemudian kapas lidi dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi larutan steril ringer laktat 10 mL, diambil 1 mL ditanam dalam media *Plate Count Agar* (PCA), diratakan dengan *spreader glass* dan diulang sebanyak tiga kali. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Apabila ditemukan pertumbuhan mikroorganisme pada media *Plate Count Agar* (PCA), maka instrumen pakai ulang dinyatakan tidak steril (Anonim, 2001). Dari pertumbuhan mikroorganisme pada media *Plate*

Count Agar (PCA), selanjutnya dihitung jumlah koloninya. Jumlah koloni dihitung pada masing-masing cawan dengan cara menghitung jumlah koloni dikalikan dengan faktor pembagi dan faktor pengencerannya. Kemudian hasil dari masing-masing cawan dihitung nilai rata-ratanya, dilaporkan sebagai nilai koloni total (Anonim, 2000).

5. Identifikasi mikroorganisme

Identifikasi mikroorganisme dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain dengan pengecatan, uji pada media selektif, dan uji identifikasi biokimia (Hart dan Shears, 1997).

a. Pengecatan

Pengecatan dilakukan dengan metode pengecatan Gram A, Gram B, Gram C, dan Gram D. Dari masing-masing cat tersebut memiliki komposisi yang berbeda-beda. Untuk cat Gram A (warna ungu) terdiri dari kristal violet, alkohol 96%, dan ammonium oksalat 1% dalam *aquadest*. Komposisi pada cat Gram B terdiri dari iodium, kalium iodida, dan *aquadest*. Komposisi pada cat Gram C terdiri dari aseton dan alkohol. Sedangkan komposisi untuk Gram D terdiri dari safranin, alkohol 96%, dan *aquadest* (Hart and Shears, 1997).

b. Uji pada media selektif

Enterobacteriaceae merupakan kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang yang habitat alamiahnya berada pada sistem usus manusia dan binatang. *Enterobacteriaceae* lebih sering memfermentasi gula dan tumbuh baik pada media MacConkey. MacConkey merupakan media yang selektif untuk enterik Gram negatif. Media MacConkey adalah media yang selektif untuk bakteri enterik

patogen Gram negatif (*Salmonella* dan *Shigella*) dan coliform (Anonim^c, 2011). Media MacConkey selektif untuk isolasi *Enterobacteriaceae* yang berasal dari feses, urin, air kotor, dan makanan (Anonim^d, 2011).

Dari pengamatan pada media MacConkey dapat dibedakan spesies yang mampu meragi laktosa (merah muda) dan tidak dapat meragi laktosa (pucat), serta mengetahui bentuk koloni bakteri (Hart dan Shears, 1997).

c.Uji biokimia

Uji biokimia merupakan salah satu metode yang digunakan untuk identifikasi *enterobacteriaceae*. Uji ini dapat dilakukan dengan menggunakan media *Kligler Iron Agar* (KIA), *Lysine Iron Agar* (LIA), dan *Motility Indol Ornithine medium* (MIO). Media KIA merupakan medium gabungan yang mengandung glukosa, laktosa, fenol merah, dan ferri sitrat. Media *Kligler Iron Agar* (KIA) digunakan untuk mempelajari reaksi bakteri terhadap komponen penyusun media juga untuk melihat produksi asam, mempelajari kemampuan membentuk H₂S yang akan diikat sebagai ferri sulfida yang terlihat berwarna hitam (Hart dan Shears, 1997).

Pada media *Lysine Iron Agar* (LIA) dapat diketahui reaksi bakteri terhadap lisine, serta kemampuan membentuk H₂S. Suasana asam ditunjukkan dengan warna kuning pada dasar tabung, dan suasana alkali ditunjukkan dengan warna ungu pada daerah tebing. Kemampuan membentuk H₂S ditunjukkan dengan perubahan warna hitam pada media (Anonim^a, 2011).

Media *Motility Indol Ornithine* (MIO) merupakan media yang digunakan untuk mengetahui adanya pergerakan bakteri, kemampuan menghasilkan indol,

serta kemampuan bakteri bereaksi memecah ornitin. Motilitas bakteri ditunjukkan dengan adanya sebaran kabut putih keluar dari tusukan. Untuk bakteri yang tidak motil hanya ditunjukkan garis putih sepanjang tusukan. Produksi indol ditunjukkan dengan pembentukan cincin warna merah pada bagian atas tabung setelah penambahan reagen *Kovac's for indol*. Untuk reaksi indol negatif tidak terbentuk cincin merah, namun berwarna kuning. Reaksi bakteri terhadap ornitin ditunjukkan dengan perubahan warna pada tiga perempat bagian bawah media. Untuk reaksi dekarboksilasi ornitin positif ditunjukkan dengan warna ungu pada tiga perempat bagian bawahnya, sedangkan reaksi dekarboksilasi ornitin negatif ditunjukkan dengan warna kuning pada tiga perempat bagian bawah media (Anonim^b, 2011).

E. Keterangan Empiris

Dari penelitian ini diharapkan mampu mengetahui waktu mulai ditemukan pertumbuhan mikroorganisme, mengetahui jenis dan jumlah mikroorganisme yang tumbuh pada instrumen pakai ulang paska sterilisasi di sub instalasi *Central Sterile Supply Department* (CSSD) RSUD Dr. Moewardi Surakarta.